

ANATOMI, KOMPONEN BIOAKTIF DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN MANGROVE API-API (*Avicennia marina*)

Anatomy, Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Mangrove Api-api (Avicennia marina) Leaf

Agoes Mardiono Jacob*, Sri Purwaningsih, Rinto

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor

*Korespondensi: Jalan Lingkar Akademik, Kampus IPB Dramaga 16680, Email: agoes58@yahoo.de

Abstract

The study about chemical and physical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of mangrove api-api (*Avicennia marina*) leaf have been done. The structure of leaf tissues was analyzed with microscopic method, chemical compositions were determined by proximate analysis, antioxidant activity was determined by DPPH method, while bioactive compounds were determined by phytochemical assay. The microscopic analysis shown that api-api's leaf have common feature dicotyl leaves structure, but it has a unique additional structure, that was salt extruding gland. The result of proximate analysis showed that api-api's leaf was high in crude fiber (4.12%) and carbohydrate (23.00%). Ethyl acetate extract of api-api's leaf showed higher antioxidant activity than hexane and methanol extracts, with IC_{50} value is 182.33 ppm. The ethyl acetate extract in concentration 300 ppm had higher ability to inhibit autooxidation that occurred in oil/water emulsion. Flavonoid, steroid and reduction sugar were detected in api-api leaf extract.

Keywords: antioxidant activity, *Avicennia marina*, DPPH, flavonoid, salt extruding gland.

Abstrak

Kajian mengenai karakteristik fisik dan kimiawi, komponen bioaktif dan aktivitas antioksidan daun mangrove api-api (*Avicennia marina*) telah dilakukan. Struktur jaringan daun api-api dilihat dengan pengamatan mikroskopik, komposisi kimia diukur dengan analisis proksimat, aktivitas antioksidan diuji dengan metode DPPH, dan komponen bioaktif diketahui dengan metode fitokimia. Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan daun api-api memiliki struktur jaringan yang hampir sama dengan daun dikotil pada umumnya, hanya saja daun api-api memiliki struktur tambahan berupa kelenjar garam. Hasil analisis proksimat daun api-api menunjukkan bahwa daun api-api mengandung serat kasar (4,12%) dan karbohidrat (23,00%) yang cukup tinggi. Ekstrak etil asetat daun api-api memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan ekstrak metanol dan heksan, dengan IC_{50} sebesar 182,33 ppm (tergolong antioksidan lemah). Ekstrak etil asetat daun api-api pada konsentrasi 300 ppm memiliki kemampuan penghambatan proses oksidasi pada emulsi minyak yang tertinggi. Komponen bioaktif yang terdeteksi pada ekstrak daun api-api adalah flavonoid, steroid dan gula pereduksi.

Kata kunci: aktivitas antioksidan, *Avicennia marina*, DPPH, flavonoid, kelenjar garam.

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan salah satu penyebab timbulnya penyakit degeneratif antara lain kanker, aterosklerosis, stroke, rematik, jantung, gagal ginjal, hipertensi dan rusaknya pembuluh darah otak dan penyakit kronik (Steinberg 2009; Theroux dan Libby 2005; Prasad *et al.* 2009; Saha *et al.* 2008; Meenakshi dan Gnanambigai 2009). Aktivitas radikal bebas dapat diredam

dengan pemberian antioksidan atau mengonsumsi antioksidan (Ghosal *et al.* 1996; radikal Halliwell 2007; Kubola dan Siriamornpun 2008; Escudero *et al.* 2008; Mohsen dan Ammar 2009). Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas sehingga dapat melindungi kehidupan organisme dari kerusakan akibat produksi *Reactive Oxygen Species* dan turunannya yang tak terkendali (Ghosal *et al.* 1996). Berdasarkan sumbernya, antioksidan

digolongkan dalam dua jenis, yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Contoh antioksidan sintetis yang sering digunakan masyarakat antara lain *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), *tert-butylhydroquinone* (TBHQ) dan *propyl gallate* (PG) (Wichi 1988). Keuntungan menggunakan antioksidan sintetis adalah aktivitas anti radikalnya yang sangat kuat. Namun, berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan Wichi (1988) serta Thompson dan Moldeus (1988), antioksidan sintetis BHA dan BHT berpotensi karsinogenik. Pencarian sumber antioksidan alami sangat dibutuhkan untuk menggantikan peran antioksidan sintetis.

Mahera *et al.* (2011) menyatakan bahwa api-api merupakan salah satu spesies mangrove yang sangat penting. Mangrove api-api merupakan salah satu jenis tumbuhan yang tersebar di seluruh Indonesia dan tersedia melimpah serta etnobotanis memberikan berbagai manfaat, yakni memiliki aktivitas antimalaria dan aktivitas sitotoksik (Miles *et al.* 1999), anti nematoda (Tariq *et al.* 2007), antibakterial (Subashree *et al.* 2010) dan antiviral (Zandi *et al.* 2009). Selain itu, daun api-api juga telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional untuk pengobatan penyakit kulit, rematik, cacar, bisul dan pakan hewan di peternakan (Fauvel *et al.* 1993; Bandaranayake 2002).

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari karakteristik fisik, komposisi kimiawi, menentukan secara kualitatif senyawa bioaktif daun api-api dan menentukan aktivitas antioksidan serta aplikasinya.

MATERIAL DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun api-api (*Avicennia marina*), larutan TBA, gifford, paraffin, pewarna *safranin*, akuades, kjeltab selenium, H_2SO_4 p.a. pekat, H_3BO_3 4% yang mengandung indikator *bromcherosol green-methyl red* (1:2), HCl 0,0947 N, HCl 10%, $AgNO_3$ 0,10 N, metanol (p.a), etil asetat (p.a), heksan (p.a), kristal DPPH, BHT, indikator pati, asam asetat glasial, dan minyak kelapa.

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain jangka sorong, pisau, sudip, cawan porselen, timbangan digital, botol film dan botol kaca kecil, *holder*, kotak blok, pinset, kuas, oven, mikrotom Yamato RV-240, *hot plate*, gelas obyek, rak pewarna, mikroskop cahaya Olympus tipe CH20 dan kamera mikroskop Olympus DP12, *aluminium foil*, gegep, desikator, oven, kompor listrik, tanur pengabuan, kertas saring whatman 42 bebas abu, kapas bebas lemak, labu lemak, kondensator, tabung soxhlet, penangas air, labu kjeldahl, destilator, labu erlenmeyer, buret, pipet volumetrik, pipet mikro, pipet tetes, gelas ukur, *grindmill*, *orbital shaker*, *rotary vacuum evaporator*, corong kaca, botol gelas, gelas piala, tabung reaksi, spektrofotometer UV-VIS, inkubator dan *vortex*.

Lingkup Penelitian

Penelitian ini terdiri atas pengukuran morfometrik, pengamatan struktur jaringan dengan pembuatan preparat awetan dengan metode paraffin, uji proksimat yang meliputi kadar air, kadar abu, lemak, protein, serat kasar dan karbohidrat (AOAC 2005), ekstraksi tunggal dengan 3 jenis pelarut yang berbeda kepolarannya, pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun dengan metode DPPH (Hanani *et al.* 2005), pengujian kualitatif komponen bioaktif dengan metode fitokimia (Harborne 1987) dan pengujian kemampuan ekstrak terpilih dalam menghambat proses oksidasi yang terjadi pada emulsi minyak (Santoso *et al.* 2004).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Fisik daun api-api

Daun api-api memiliki ciri-ciri antara lain warna permukaan atas dan bawahnya berbeda; permukaan atas daun berwarna hijau dan permukaan bawahnya berwarna hijau kekuningan dan dengan bertambahnya umur beberapa bagian bawah berubah menjadi putih. Daun berbentuk oval/bulat telur dengan ujung meruncing. Permukaan atas daun memiliki tekstur licin halus, sedangkan permukaan bawah memiliki tekstur yang lebih kasar (Tabel 1)

Tabel 1 Karakteristik fisik daun Api-api

| Karakteristik fisik | Keterangan |
|---------------------|--|
| Warna daun | Bagian atas berwarna hijau tua, sedangkan bagian bawah berwarna hijau kekuningan dengan beberapa bagian terlihat putih |
| Bentuk daun | Daun berbentuk oval dengan ujung runcing membulat, tepi daun rata |
| Permukaan daun | Daun memiliki tekstur halus pada bagian atas dan agak kasar pada bagian bawah |

Morfometrik daun Api-api

Sampel daun Api-api yang digunakan dalam penelitian ini memiliki panjang daun rata-rata sebesar 69,36 mm, lebar daun rata-rata sebesar 36,29 mm dan tebal daun rata-rata sebesar 0,77 mm (Tabel 2). Metusalach (2007) menyatakan bahwa pertumbuhan suatu biota dipengaruhi faktor eksternal dan internal. Faktor eksternal yaitu habitat, musim, suhu perairan, jenis makanan yang tersedia dan faktor lingkungan lainnya, sedangkan faktor internalnya yaitu umur, ukuran, jenis kelamin, kebiasaan makan dan faktor biologis lainnya.

Struktur jaringan daun Api-api

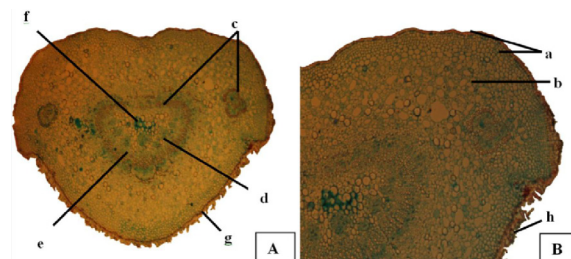
Tangkai daun

Potongan melintang tangkai daun Api-api memperlihatkan adanya jaringan epidermis, korteks, floem, xilem dan parenkim sentral. Sel-sel epidermis pada sisi atas tangkai daun api-api saling berhubungan dan secara keseluruhan terlihat lebih rata dibandingkan dengan rangkaian sel-sel epidermis bagian bawah tangkai daun (Gambar 1).

Sel epidermis atas tangkai daun Api-api terlihat lebih kecil dibandingkan dengan sel-sel di bawahnya, dinding tangensial atas relatif lebih tebal dibandingkan dinding tangensial bawahnya. Berbeda dengan sel epidermis atas, sel-sel epidermis bawah tangkai daun Api-api lebih memiliki bentuk dan ukuran yang berbeda, dan sebagian terdiferensiasi menjadi trikoma dan kelenjar garam (*extrude salt gland*). Dengan pewarna safranin, lapisan kutikula terlihat berwarna merah.

Tabel 2 Morfometrik daun Api-api

| Parameter | Rata-rata (mm) |
|--------------|----------------|
| Panjang daun | 69,36 ± 5,12 |
| Lebar daun | 36,29 ± 3,39 |
| Tebal daun | 0,77 ± 0,11 |



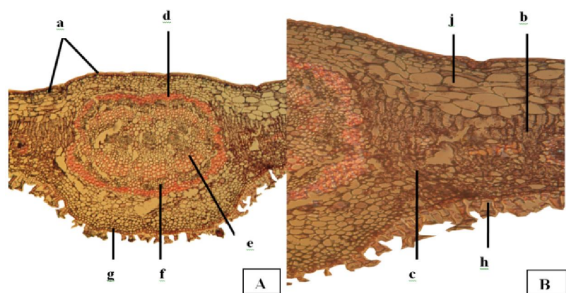
Gambar 1 Anatomi bagian tangkai daun Api-api, A (perbesaran 4x10), B (perbesaran 10x10), a= kutikula dan epidermis atas, b= parenkim, c= sklerenkim, d= xilem, e= floem, f= parenkim sentral, g= epidermis bawah, h= kelenjar garam.

Jaringan parenkim ditemukan setelah jaringan epidermis dan menuju ke arah pusat, sel parenkim terlihat semakin besar ukurannya dan semakin tidak beraturan bentuknya. Jaringan ini belum bisa dibedakan antara jaringan hipodermis dan parenkim korteks.

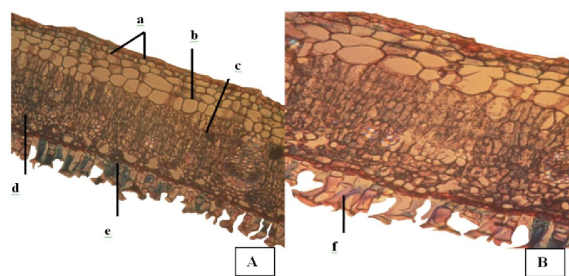
Jaringan pengangkut dijumpai pada pusat jaringan dan pada kedua tepi jaringan tangkai daun Api-api, yang bisa dibedakan antara sel-sel xilem dan phloem. Sel sklerenkim xilem tersusun berdampingan mengarah ke parenkim sentral dan terlihat berdinding lebih tebal bila dibandingkan dinding sel di sekitarnya, dan berwarna merah bila diberi safranin. Sel-sel parenkim xilem terlihat lebih besar dibandingkan sel-sel floem. Dua berkas jaringan pengangkut terdapat pada bagian tepi jaringan tangkai daun api-api yang secara keseluruhan lebih kecil daripada jaringan pengangkut utama.

Helaian daun

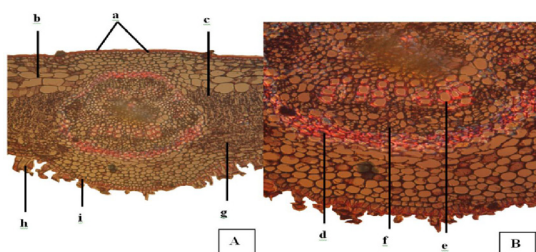
Helaian daun Api-api termasuk seri elips dengan bentuk jorong (*ovalis; ellipticus*) (Tabel 1), hal ini karena perbandingan panjang dan lebar daun api-api adalah 1,9 : 1. Helaian daun dikatakan berbentuk jorong jika perbandingan panjang dan lebar adalah 1,5-2 : 1 (Tjitrosoepomo 2007). Struktur anatomi helaian daun api-api disajikan pada Gambar 2 sampai Gambar 5.



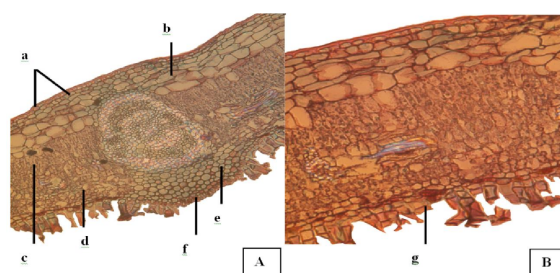
Gambar 2 Anatomi bagian pangkal daun Api-api, A (perbesaran 10x10), B (perbesaran 20x10), a= kutikula, dan epidermis, b= palisade, c= bunga karang, d= sklerenkim, e= xilem, f= floem, g= epidermis bawah, h= kelenjar garam. i= hipodermis



Gambar 4 Anatomi bagian tepi daun Api-api, A (perbesaran 20x10), B (perbesaran 40x10), a= kutikula, dan epidermis atas, b= hipodermis, c= palisade, d= bunga karang, e= epidermis bawah, f= kelenjar garam



Gambar 3 Anatomi bagian tengah daun Api-api, A (perbesaran 20x10), B (perbesaran 40x10), a= kutikula dan epidermis atas, b= hipodermis, c= palisade, d= sklerenkim, e= xilem, f= floem, g= bunga karang, h= kelenjar garam, i= epidermis bawah.



Gambar 5 Anatomi bagian ujung daun Api-api, A (perbesaran 20x10), B (perbesaran 40x10), a= kutikula dan epidermis atas, b= hipodermis, c= palisade, d= bunga karang, e= korteks, f= epidermis bawah, g= kelenjar garam.

Helaian daun api-api tersusun jaringan epidermis atas beserta lapisan kutikula; beberapa lapisan sel yang bisa digolongkan sebagai sel-sel hipodermis; jaringan palisade sebanyak 3-4 lapis yang kompak dan menunjukkan sedikit ruang antar sel; jaringan parenkim asimilasi sebagai pengganti jaringan bunga karang, yang menunjukkan sedikit ruang antar sel; sklerenkim yang terletak di luar jaringan pembuluh pengangkut, yang bereaksi merah dengan pewarna safranin; jaringan pengangkut, epidermis bawah dan trikoma berupa

kelenjar garam.

Daun api-api bertipe dorsiventral, mengingat daun api-api hanya memiliki jaringan palisade (tiang) pada sisi bagian atas daun saja. Daun dikatakan mempunyai tipe dorsiventral apabila jaringan palisade hanya terdapat pada sisi atas daun (Nugroho *et al.* 2006). Daun yang bertipe dorsiventral biasanya memiliki permukaan atas yang lebih berwarna (biasanya lebih berwarna hijau) dibandingkan bagian bawah, karena

Tabel 3 Komposisi kimia daun Api-api (% berat basah)

| Komposisi kimia | api-api (<i>A. marina</i>) | <i>Ceriops decandra</i> (Griff)* | <i>Bruguiera</i> <i>parviflora</i> (Roxb.)* | <i>Rhizophora</i> <i>mucronata</i> (Poir)* |
|-----------------|---------------------------------|-------------------------------------|--|---|
| Kadar air | 68,16 | 52,51 | 51,75 | 46,63 |
| Kadar protein | 3,67 | 2,00 | 2,08 | 1,96 |
| Kadar lemak | 0,72 | 0,35 | 0,12 | 0,41 |
| Kadar abu | 4,45 | 1,82 | 1,38 | 1,25 |
| Karbohidrat | 23,00 | 19,06 | 22,14 | 22,29 |
| Serat kasar | 4,12 | - | - | - |

Keterangan: * Bunyapraphatsara *et al.* (2002)

kandungan kloroplas lebih banyak pada jaringan palisade sehingga warna hijau lebih terlihat pada permukaan atas daun dibandingkan permukaan bawah daun.

Helaian daun api-api memiliki dua lapis jaringan epidermis, yaitu epidermis atas dan epidermis bawah. Jaringan epidermis atas daun api-api tersusun atas 1 lapis sel tipis yang dilapisi kutikula. Jaringan epidermis bawah disusun oleh 1 lapis sel tipis yang terdiferensiasi membentuk organ tambahan berupa kelenjar garam (*salt extruding gland*). Hipodermis daun api-api disusun atas sel-sel yang lebih besar daripada sel penyusun, jaringan epidermis atas. Borkar *et al.* (2011) menyatakan hipodermis pada helaian daun api-api berfungsi sebagai tempat penyimpanan air

Jaringan mesofil helaian daun api-api (Gambar 1-5) terdiri atas jaringan palisade dan jaringan parenkim asimilasi pengganti jaringan bunga karang. Jaringan mesofil pada tumbuhan Dicotyledoneae umumnya berdiferensiasi menjadi jaringan palisade dan bunga karang (Nugroho *et al.* 2006). Palisade pada daun api-api disusun atas 3 sampai 4 lapis sel yang memanjang vertikal dibawah hipodermis. Jaringan parenkim asimilasi pengganti jaringan bunga karang pada daun api-api disusun oleh 2 sampai 3 sel tipis di bawah jaringan palisade dan tersusun secara tidak beraturan dan kpompak, dengan menyisakan sedikit ruang antar sel. Jaringan berkas pengangkut pada helaian daun api-api dapat dilihat pada semua gambar anatomi bagian-bagian daun api-api. Berkas pengangkut daun api-api terdiri atas pembuluh xilem pada bagian dalam dan floem pada bagian luar (Gambar 2). Berkas pengangkut pada daun api-api termasuk dalam tipe kolateral terbuka, karena xilem dan floem terletak berdampingan dan dibatasi oleh kambium.

Struktur tambahan yang berada di bawah epidermis bawah yaitu kelenjar garam (*salt extruding gland*). Kelenjar garam merupakan organ yang berasal dari modifikasi sel epidermis bawah yang terjadi akibat adaptasi terhadap kelebihan garam pada daun. Setiap kelenjar garam pada daun api-api terdiri atas 2 sampai 4 kumpulan sel, 1 sel batang dan 8-12 sel ekskresi.

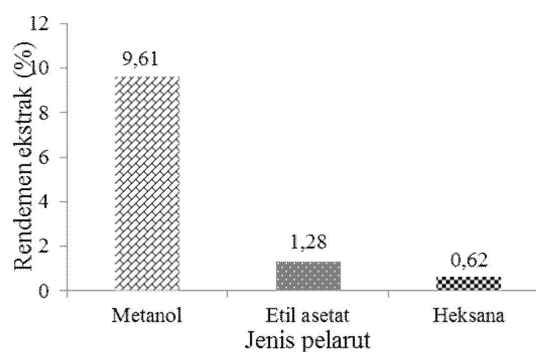
Kelenjar garam yang ada pada daun api-api juga mengalami adaptasi sesuai dengan habitatnya. Borkar *et al.* (2011) menyatakan bahwa pada salinitas yang lebih rendah kelenjar garam akan lebih pendek sedangkan pada salinitas yang lebih tinggi kelenjar garam akan lebih panjang. Adanya kelenjar garam dan kemampuan kelenjar garam beradaptasi terhadap lingkungan yang memiliki salinitas berbeda membuat mangrove api-api dapat hidup di habitat yang salinitasnya rendah maupun ekstrim.

Komposisi Kimia Daun Api-api

Hasil analisis proksimat menunjukkan daun api-api mengandung kadar air sebesar 68,16% (Tabel 3). Kadar air daun api-api lebih besar jika dibandingkan dengan kadar air daun mangrove lainnya, namun secara umum kadar air pada daun mangrove relatif rendah. Kecenderungan ini mungkin disebabkan habitat mangrove yang bersalinitas tinggi dan suhu habitat yang tinggi karena pengaruh transfer panas dari laut, sebagaimana yang dikemukakan oleh Krzynowek dan Murphy (1987) bahwa kadar lemak dan kadar air untuk beberapa spesies berfluktuasi tergantung dengan musim dan lokasi pengambilan.

Hasil analisis proksimat menunjukkan kadar protein kasar daun api-api sebesar 3,67% (Tabel 3). Kandungan protein daun api-api lebih besar jika dibandingkan dengan kadar protein daun mangrove lainnya. Hasil penelitian Wibowo *et al.* (2009) menunjukkan bahwa daun api-api (*Avicennia* sp.) mengandung asam amino esensial yang cukup lengkap, yaitu sebanyak 9 asam amino esensial.

Hasil analisis proksimat menunjukkan bahwa



Gambar 6 Rendemen ekstrak daun Api-api.

daun api-api memiliki kandungan lemak sebesar 0,72% (Tabel 3). Kandungan lemak ini sangat rendah jika dibandingkan dengan senyawa yang lain, namun lebih tinggi jika dibandingkan dengan kadar lemak daun mangrove lainnya. Hasil ini sama dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Bunyapraphatsara *et al.* (2002) yang juga menunjukkan bahwa dari semua jenis daun mangrove yang dianalisis proksimatnya, nilai kadar lemaknya rata-rata kurang dari 0,5%.

Hasil analisis proksimat menunjukkan bahwa daun api-api memiliki kadar abu sebesar 4,45% (Tabel 3). Kadar abu yang dimiliki daun api-api jauh lebih tinggi jika dibandingkan dengan kadar abu yang ada pada daun tanaman mangrove lainnya. Perbedaan kadar abu/mineral pada tanaman dipengaruhi banyak faktor, antara lain kesuburan tanah, genetika tanaman, dan lingkungan dimana tanaman itu tumbuh (Fennema 1996).

Daun api-api memiliki kadar serat kasar yang cukup tinggi, yaitu 4,12%. Nilai ini jauh berbeda jika dibandingkan dengan kadar serat kasar pada daun mangrove *Canavalia maritima* dan *Canavalia cathartica*. Hasil penelitian yang dilakukan Seena dan Sridhar (2005) menunjukkan bahwa kedua daun tanaman mangrove tersebut mengandung kadar serat yang lebih rendah, yakni sebesar 2,23% dan 2,83%.

Karbohidrat daun api-api dihitung dengan metode *by different*, artinya kadar karbohidrat didapatkan dengan mengurangi total bahan dengan persentase setiap kandungan bahan selain karbohidrat. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa daun api-api mengandung karbohidrat sebesar 23,00%. Jumlah ini sangat besar jika dibandingkan dengan kadar karbohidrat yang ada pada daun tanaman air yang lain, misalnya selada

air. Kandungan karbohidrat pada daun selada air sebesar 1,90% (Permatasari 2011), namun jika dibandingkan dengan kadar karbohidrat pada daun tanaman mangrove lainnya, kadar karbohidrat daun api-api tidak jauh berbeda. Tingginya karbohidrat terlihat dari tingginya nilai kadar serat yang terukur, kadar serat daun api-api lebih besar dibandingkan kadar serat pada daun tanaman mangrove lainnya. Hasil analisis struktur anatomi jaringan juga menunjukkan bahwa pada jaringan daun banyak terdapat senyawa yang diduga merupakan senyawa polisakarida yang tampak berwarna merah saat diberi pewarna *safranin*.

Ekstraksi Senyawa Aktif

Ekstrak kasar

Hasil ekstraksi yang diperoleh memiliki karakteristik yang berbeda sesuai dengan jenis pelarut yang digunakan. Ekstrak metanol berbentuk cairan berwarna hijau pekat, ekstrak etil asetat berbentuk pasta agak kental berwarna hijau kecoklatan, sedangkan ekstrak heksana berbentuk pasta pekat berwarna kuning tua. Perbedaan hasil ekstraksi tidak hanya dari sisi warna dan bentuk, namun dari segi persentase rendemen juga terdapat perbedaan. Perbedaan persentase rendemen ekstrak daun api-api disajikan pada Gambar 6.

Ekstraksi dengan metanol menghasilkan rendemen sebesar 9,61%, ekstraksi dengan etil asetat sebesar 1,28% dan ekstraksi dengan heksan menghasilkan rendemen 0,62%. Kepolaran senyawa aktif dari berbagai bahan berbeda-beda dan komponen aktif hanya akan terekstrak oleh pelarut yang tingkat kepolarannya sama dengan kepolaran komponen aktif tersebut, hal ini diperkuat oleh hasil penelitian yang dilakukan oleh Salamah *et al.* (2008), bahwa rendemen ekstrak hasil maserasi dengan pelarut yang berbeda menghasilkan persentase rendemen yang berbeda pula. Senyawa aktif yang terkandung di dalam daun api-api secara umum bersifat polar. Persentase rendemen ekstrak terbesar adalah rendemen ekstrak metanol yang merupakan pelarut polar. Metanol yang merupakan pelarut polar mampu mengekstrak banyak sekali komponen aktif suatu bahan, menurut Harborne (1987) pelarut

Tabel 4 Hasil uji aktivitas antioksidan

| Jenis sampel | Persamaan Regresi | R ² | IC ₅₀ (ppm) |
|---------------------|----------------------|----------------|------------------------|
| BHT | $y = 8,839x - 1,755$ | 0,944 | 5,85 |
| Ekstrak methanol | $y = 0,153x + 10,59$ | 0,992 | 257,58 |
| Ekstrak etil asetat | $y = 0,206x + 12,44$ | 0,976 | 182,33 |
| Ekstrak heksan | $y = 0,050x - 0,183$ | 0,967 | 1003,66 |

yang bersifat polar mampu mengekstrak senyawa alkaloid kuartener, komponen fenolik, karotenoid, tannin, gula, asam amino dan glikosida. Besarnya rendemen ekstrak metanol diduga dipengaruhi oleh keberadaan klorofil yang ikut terekstrak, klorofil merupakan komponen yang keberadaanya cukup besar pada daun, sedangkan metanol merupakan salah satu pelarut terbaik yang dapat mengekstrak klorofil. Wasmund *et al.* (2006) menyatakan bahwa klorofil merupakan zat warna hijau yang banyak terdapat pada daun. Klorofil dapat diekstrak dengan pelarut polar, misalnya metanol, aseton, dan etanol.

Aktivitas Antioksidan

Hasil perhitungan menunjukkan larutan BHT memiliki IC_{50} 5,85 ppm, IC_{50} ekstrak metanol sebesar 257,58 ppm, ekstrak etil asetat sebesar 182,33 ppm dan ekstrak heksan sebesar 1003,66 ppm (Tabel 4). Molyneux (2004) menyatakan bahwa *Inhibitor Concentration 50* (IC_{50}) merupakan parameter kuantitatif yang dipakai untuk menunjukkan besarnya aktivitas antioksidan suatu bahan. *Inhibitor Concentration 50* didefinisikan sebagai konsentrasi substrat yang dapat menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH.

Larutan BHT memiliki nilai IC_{50} terkecil dibandingkan ketiga jenis ekstrak kasar daun Api-api. Nilai IC_{50} BHT sebesar 5,85 ppm, hal ini berarti hanya dibutuhkan larutan BHT sebanyak 5,85 ppm untuk mereduksi 50% aktivitas radikal bebas (DPPH). Nilai ini tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Nurjanah *et al.* (2011), nilai IC_{50} BHT yang diuji sebesar 4,91 ppm. *Butylated Hidroxy Toluene* (BHT) merupakan antioksidan sangat kuat, karena nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm.

Penelitian yang dilakukan Herawati dan Akhlus (2006) juga memperkuat pendapat bahwa BHT adalah senyawa antioksidan sintetik yang sangat kuat, karena BHT merupakan senyawa penangkap radikal yang lebih efektif dibandingkan dengan antioksidan yang digunakan dalam penelitian tersebut, karena lebih mampu menghambat peningkatan bilangan peroksida minyak sawit lebih baik dibandingkan β -karoten dan β -tokoferol.

Tabel 5 Hasil uji fitokimia ekstrak daun Api-api terpilih

| Uji | Hasil uji | Standar acuan (perubahan warna atau endapan) |
|-------------|-----------|--|
| Alkaloid: | | |
| Dragendorf | - | Endapan merah atau jingga |
| Meyer | - | Endapan putih kekuningan |
| Wegner | - | Endapan coklat |
| Steroid | + | Perubahan dari merah menjadi biru/hijau |
| Flavonoid | + | Lapisan amil alkohol berwarna merah/kuning/hijau |
| Saponin | - | Terbentuk busa |
| Fenol | - | Warna hijau atau hijau biru |
| hidroquinon | - | Warna ungu antara 2 lapisan |
| Molisch | - | Warna hijau/kuning/endapan merah bata |
| Benedict | + | Warna ungu |
| Biuret | - | Warna biru |
| Ninhidrin | - | |

Besarnya nilai IC_{50} yang dimiliki masing-masing ekstrak berbeda antara satu sama lain. Ekstrak kasar daun api-api yang diperoleh dengan pelarut etil asetat memiliki aktivitas penghambatan tertinggi dengan nilai IC_{50} terendah di antara yang lain yaitu sebesar 182,33 ppm (Tabel 4). Ekstrak kasar daun api-api yang diekstrak dengan metanol dan heksana berturut-turut memiliki nilai IC_{50} sebesar 257,58 ppm dan 1003,66 ppm. Tingginya aktivitas penghambatan radikal bebas ekstrak etil asetat yang ditandai dengan rendahnya nilai IC_{50} disebabkan oleh sifat etil asetat yang semi polar sehingga menyebabkan etil asetat dapat mengekstrak senyawa antioksidan yang bersifat polar maupun senyawa antioksidan yang bersifat nonpolar, sehingga terdapat beragam jenis senyawa antoksidan yang terekstrak walaupun rendemen ekstrak yang dihasilkan etil asetat lebih kecil. Tensiska *et al.* (2007) menyatakan bahwa pelarut etil asetat bersifat semi polar, sehingga hasil ekstraksi mungkin mengandung lebih banyak komponen isoflavon baik nonpolar (aglikon) maupun polar (glikon). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Tensiska *et al.* (2007) menunjukkan bahwa dari dua parameter yang digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak kasar isoflavon ampas tahu yaitu bilangan peroksida dan kadar diene terkonjugasi, ekstrak etil asetat memberikan hasil terbaik dibandingkan dengan ekstrak etanol dan ekstrak heksan.

Ekstrak kasar metanol memiliki rendemen yang paling tinggi, namun hal ini tidak diimbangi dengan aktivitas antioksidannya. Nilai IC_{50} ekstrak metanol sebesar 257,58 ppm. Nilai rendemen yang tinggi tersebut diduga disebabkan oleh komponen senyawa yang tidak memiliki aktivitas antioksidan yang ikut terekstrak sehingga hanya menambah jumlah ekstrak tetapi tidak meningkatkan aktivitas antioksidannya. Nilai IC_{50} ekstrak metanol masih jauh lebih baik jika dibandingkan dengan IC_{50} ekstrak heksan yang hanya memiliki IC_{50} sebesar 1003,66 ppm.

Aktivitas antioksidan ekstrak heksan sangat kecil, yang kemungkinan komponen yang terekstrak bukanlah senyawa antioksidan yang kuat. Penelitian yang dilakukan Suratmo (2009) pada ekstrak daun sirih dan menunjukkan hasil bahwa pada fraksi ekstrak n-heksana tidak menunjukkan aktivitas antioksidan, dan diduga hanya mengandung senyawa non-polar, misalnya minyak atsiri, lemak dan minyak

Aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat tergolong antioksidan lemah karena IC_{50} ekstrak etil asetat sebesar 182,33 ppm masuk dalam kisaran kelompok antioksidan lemah yaitu 150 ppm-200 ppm. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol tergolong antioksidan sangat lemah karena IC_{50} ekstrak methanol 257,58 ppm lebih besar dari kisaran kelompok antioksidan lemah yaitu lebih besar dari selang 150-200 ppm. Ekstrak heksan juga tergolong ke dalam kelompok antioksidan yang sangat lemah, karena nilai IC_{50} sebesar 1003,66 ppm jauh melebihi kisaran kelompok antioksidan lemah (150-200 ppm). Blois (1958) menyatakan, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai $IC_{50} < 0,05$ mg/L (50 ppm), kuat apabila nilai IC_{50} antara 0,05-0,10 mg/L (50 ppm-100 ppm), sedang apabila nilai IC_{50} berkisar 0,10-0,15 mg/L (100 ppm-150 ppm) dan lemah apabila nilai IC_{50} berkisar antara 0,15mg/L-0,20 mg/L (150 ppm-200 ppm).

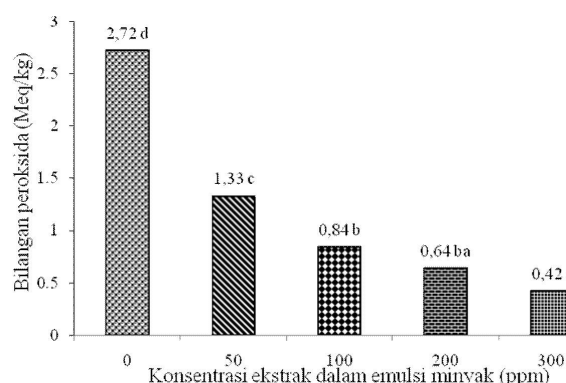
Senyawa bioaktif ekstrak kasar daun api-api terpilih

Hasil uji fitokimia pada menunjukkan ekstrak kasar daun api-api yang telah diekstrak dengan etil asetat mengandung 3 dari 9 komponen

bioaktif yang diuji berupa flavonoid, steroid dan gula pereduksi (Tabel 5). Senyawa bioaktif yang berpotensi menjadi senyawa antioksidan adalah flavonoid dan steroid. Percival (1998) menyatakan bahwa flavonoid memiliki aktivitas antiinflamasi, antialergenik, antiviral, anti-aging, antikanker dan antioksidan.

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Terpilih

Hasil uji bilangan peroksida pada emulsi minyak kelapa yang ditambah dengan ekstrak kasar daun api-api terpilih (ekstrak etil asetat) menunjukkan bahwa ekstrak dapat menghambat proses oksidasi yang terjadi pada emulsi minyak kelapa. Santoso *et al.* (2004) menyatakan, penambahan zat antioksidan dalam emulsi minyak akan menghambat pembentukan peroksida. Emulsi minyak kelapa (sampel 0 ppm) memiliki bilangan peroksida sebesar 2,72 Meq/ Kg. Emulsi yang ditambahkan ekstrak kasar daun api-api terpilih pada konsentrasi 50 ppm memiliki bilangan peroksida sebesar 1,33 Meq/ Kg. Emulsi yang ditambahkan ekstrak kasar pada konsentrasi 100 ppm memiliki bilangan peroksida sebesar 0,84 Meq/Kg. Emulsi yang ditambahkan ekstrak kasar pada konsentrasi 200 ppm memiliki bilangan peroksida sebesar 0,64 Meq/Kg dan emulsi yang ditambahkan ekstrak kasar pada konsentrasi 300 ppm memiliki bilangan peroksida sebesar 0,42 Meq/Kg (Gambar 7). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang ditambahkan, semakin



Gambar 7 Hubungan bilangan peroksida pada emulsi minyak kelapa dengan konsentrasi ekstrak daun Api-api. Keterangan: Angka-angka pada histogram yang diikuti huruf berbeda pada konsentrasi ekstrak yang digunakan menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$).

rendah bilangan peroksida yang terbentuk, dan hal ini berarti semakin besar aktivitas antioksidannya. Rendahnya nilai bilangan peroksida yang terbentuk seiring tingginya konsentrasi ekstrak yang ditambahkan karena semakin tinggi konsentrasi yang ditambahkan menyebabkan semakin banyak senyawa antioksidan yang menghambat aktivitas agen oksidasi.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi ekstrak etil asetat yang ditambahkan ke dalam emulsi minyak kelapa memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap jumlah bilangan peroksida yang terbentuk dalam emulsi minyak. Uji Duncan menunjukkan bahwa konsentrasi sebesar 0 ppm berbeda nyata dengan semua sampel yang ditambahkan ekstrak daun api-api. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian Permatasari (2011) yang menyatakan bahwa konsentrasi 0 ppm ekstrak selada air berbeda nyata dengan semua konsentrasi ekstrak selada air yang ditambahkan ke dalam emulsi minyak kelapa. Emulsi minyak dengan konsentrasi ekstrak 300 ppm juga berbeda nyata dengan sampel yang lain. Sampel emulsi dengan konsentrasi ekstrak 200 ppm tidak berbeda nyata dengan konsentrasi ekstrak 100 ppm dan 300 ppm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun selada air sebesar 200 ppm tidak menghasilkan perbedaan yang signifikan dengan konsentrasi 100 ppm dan 300 ppm. Konsentrasi ekstrak 300 ppm merupakan konsentrasi yang memiliki aktivitas penghambatan terbaik terhadap pembentukan peroksida, karena mampu menghasilkan bilangan peroksida terkecil sebesar 0,42 Meq/Kg.

KESIMPULAN

Daun api-api memiliki struktur jaringan yang hampir sama dengan tanaman dikotil lainnya dengan organ tambahan berupa kelenjar garam, selain itu daun api-api juga tinggi akan kandungan serat dan karbohidrat. Komponen bioaktif yang terdeteksi pada daun Api-api adalah flavonoid, steroid dan gula pereduksi. Daun Api-api juga terbukti memiliki aktivitas antioksidan dan mampu menghambat proses oksidasi pada emulsi minyak, namun masih tergolong lemah.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist*. Arlington: The Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- Bandaranayake. 2002. Bioactivities, bioactive compounds and chemical constituents of mangrove plants. *Wetlands Ecology Management* 10: 421-452.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature* 181:1199-1200.
- Borkar MU, Athalye RP, Goldin Q. 2011. Salinity induced changes in the leaf anatomy of the mangrove *Avicennia marina* along the anthropogenically stressed tropical creek. *Journal of Coastal Development* 14(3): 191-201.
- Bunyaphatsara N, Srisukh V, Jutiviboonsuk A, Sornlek P, Thongbainoi W, Chuakut W, Fong HHS, Pezzuto JM, Kosmeder J. 2002. Vegetables from the mangrove areas. *Thai Journal of Phytopharmacy* 9(1): 1-12.
- Escudero MR, Escudero SR, Remsberg CM, Takemoto JK, Davies NM, Yanez ZA. 2008. Identification of polyphenols and antioxidant capacity of *Piper aduncum* L. *The Open Bioactive Compounds Journal* 1:18-21.
- Fauvel MT, Bousquet M, Moulis A, Gleye CJ, Jensen SR. 1993. Iridoid glycosides from *Avicennia germinans*. *Journal of Phytochemistry* 23: 93-97.
- Fennema OR. 1996. *Food Chemistry*. Ed ke-3. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Ghosal S, Tripathi VK, Chaerham S. 1996. Active constituents of *Embllica officinalis*. part I. the chemistry and antioxidative effects of two new hydrolysable tannins, emblicanin A dan B. *Indian Journal of Chemistry* 35:941-948.
- Halliwell B. 2007. Dietary polyphenols: good, bad or indifferent for your health. *Journal Cardiovascular Research* 73:341-347.
- Hanani E, Mun'im A, Sekarini R. 2005. Identifikasi senyawa antioksidan dalam spons *Callyspongia* sp. dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2(3):127-133.
- Harborne JB. 1987. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Padmawinata K, penerjemah. Edisi kedua. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Herawati, Akhlus S. 2006. Kinerja BHT sebagai antioksidan minyak sawit pada perlindungan terhadap oksidasi oksigen singlet. *Akta Kimindo* 2(1): 1 – 8.
- Krzynowek J, Murphy J. 1987. Proximate Composition, Energy, Fatty Acid, Sodium, and Cholesterol Content of Finfish, Shellfish, and their Products. *NOAA Technical Report NMFS 55*. United of State: Departement of Commerce.

- Kubola J, Siriamornpun S. 2008. Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica carantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro. *Food Chemistry* 110:881-890.
- Mahera SA, Ahmad VU, Saifullah SM, Mohammad FV, Ambreen K. 2011. Steroids and triterpenoids from grey mangrove *Avicennia marina*. *Pakistan Journal of Botany* 43(2): 1417-1422.
- Meenakshi S, Gnanambigai DM. 2009. Total flavonoid and in vitro antioxidant activity of two seaweeds of Rameshwaram coast. *Global Journal of Pharmacology* 3(2):59-62.
- Metusalach. 2007. Pengaruh fase bulan dan ukuran tubuh terhadap rendemen, kadar protein, air dan abu daging kepiting rajungan *Portunus* spp. *Jurnal Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin* 17(3):233-239.
- Miles DH, Kokpol U, Chittawong V, Tip-Pyang S, Tunsuwan K, Nguyen C. 1999. Mangrove forest: The importance of conservation as a bioresource for ecosystem diversity and utilization as a source of chemical constituents with potential medicinal and agricultural value. *1999 IUPAC* 70(11): 1-9.
- Mohsen SM, Ammar ASM. 2009. Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Journals Food Chemistry* 112:595-598.
- Molyneux P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science Technology* 26(2):211-219.
- Nugroho LH, Purnomo, Sumardi I. 2006. *Struktur dan Perkembangan Tumbuhan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Nurjanah, Abdullah A, Apriandi A. 2011. Aktivitas antioksidan dan komponen bioaktif keong ipong-ipong (*Fasciolaria salmo*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 14(1): 22-29.
- Percival M. 1998. Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights* 31(10):1-4.
- Permatasari E. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif pada Selada air (*Nasturtium officinale* L. R. Br). [Skripsi]. Bogor: Program Studi Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Prasad NP, Yang B, Dong X, Jiang G, Zhang H, Xie H, Jiang Y. 2009. Flavonoid contents and antioxidant activities from *Cinnamomum* sp. *Journal Innovative Foodscienceandemergingtechnologies* 10:627-632.
- Saha MR, Hasan SMR, Akter R, Hossain MM, Alam MS, Alam MA, Mazumder MEH. 2008. In vitro free radical scavenging activity of methanol extract of the leaves of *Mimusops elengi* linn. *Bangladesh Journal of Veteriner Medicine* 6(2):197-200
- Salamah E, Ayuningrat E, Purwaningsih S. 2008. Penapisan awal komponen bioaktif dari kijing Taiwan (*Anadonta woodiana* Lea.) sebagai senyawa antioksidan. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan* 11(2): 119-132.
- Santoso J, Yoshie Y, Suzuki T. 2004. Antioxidant activity of methanol extract from Indonesian seaweeds in an oil emulsion model. *Journal of Fish Science* 70:183-188.
- Seena S, Sridhar KR. 2005. Physicochemical, functional and cooking properties of under explored legumes, *Canavalia* of the southwest coast of India. *Food Research International* 38: 803-804.
- Steinberg D. 2009. The ldl modification hypothesis of atherogenesis. *Journal of Lipid Research* 50:376-381.
- Subashree M, Mala P, Umamaheswari m, Jayakumari M, Maheswari K, Sevanti T, Manikandan T. 2010. Screening of antibacterial properties of *Avicennia marina* from Pichavaram mangrove. *International Journal of Current Research* 1:016-019.
- Suratmo. 2009. Potensi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai antioksidan. *Jurnal penelitian* 205(1):1-5.
- Tariq M, dawar S, Fatima S, Mehdi, Zaki J. 2007. Use of *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh in the control of root knot nematode *Meloidogyne javanica* (Treub) chitwood on okra and mash bean. *Turkish Journal of Biology* 31:225-230.
- Tensiska, Marsetio, Yudiastuti SON. 2007. Pengaruh jenis pelarut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kasar isoflavon dari ampas tahu. [Hasil penelitian]. Bandung: Jurusan Teknologi Industri Pangan, Universitas Padjajaran.
- Theroux P, Libby P. 2005. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation* 111: 3481-3488
- Thompson D, Moldeus P. 1988. Cytotoxicity of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene in isolated rat hepatocytes. *Biochemical Pharmacology* 37: 2201-2207.
- Tjitrosoepomo G. 2007. *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Wasmund N, Topp I, Schories D. 2006. Optimising the storage and extraction of chlorophyll samples. *Oceanologia* 48 (1): 125-144.
- Wibowo C, Kusmana C, Suryani A, Hartati Y, Oktadiyani P. 2009. Pemanfaatan pohon mangrove api-api (*Avicennia* spp.) sebagai bahan pangan dan obat. Di dalam: *Prosiding Seminar Hasil-Hasil Penelitian IPB 2009 Buku 1: Bidang pangan dan energi*. Bogor: LPPM-IPB.
- Wichi HP. 1988. Enhanced tumour development by butylated hydroxytoluene (BHT) from the properties of effect on fure stomach and esophageal aquamoua epithelium. *Food Chemical toxicology* 26:727-723.
- Zandi K, Taherzadeh M, Yaghoubi R, Tajbakhsh S, Rastian Z, Fouladvand M, Sartavi K. 2009. Antiviral activity of *Avicennia marina* against herpes simplex virus type 1 and vaccine strain of poliovirus (an in vitro study). *Journal of Medicinal Plants Research* 3(10):771-775.